

# 紫外指纹图谱结合 PLS - DA 法鉴定 不同产地珠子参

钟 贵<sup>1,2</sup>, 张 霁<sup>2</sup>, 张金渝<sup>2</sup>, 李 涛<sup>3</sup>, 王元忠<sup>2\*</sup>

(1. 云南民族大学 植物营养与新型肥料研究所, 云南 昆明 650500;  
2. 云南省农业科学院 药用植物研究所, 云南 昆明 650200; 3. 玉溪师范学院, 云南 玉溪 653100)

**摘要:** 建立快速鉴别不同产地珠子参的方法, 为其质量评价提供依据。采用 UV 指纹图谱结合 PLS - DA 法鉴别不同产地的珠子参样品, 分析珠子参的 UV 特征光谱存在的差异, 利用 PLS - DA 方法分析不同珠子参样品 UV 特征光谱的吸光度值。结果表明, 不同产地珠子参样品的 UV 指纹图谱的特征吸收峰的吸收波长相似, 峰强度存在差异, 能有效区别不同产地的珠子参样品; PLS - DA 方法能把怒江、玉溪、大理和文山的珠子参样品分为 4 类, 除了大理和文山样品相近, 其余产地样品相距较远。

**关键词:** 珠子参; 紫外指纹图谱; PLS - DA; 产地鉴别  
**中图分类号:** O657.3   **文献标志码:** A   **文章编号:** 1004 - 3268(2015)09 - 0091 - 04

## Identification of *Panax japonicus* var. *major* from Different Origins Using UV Spectra Fingerprint Combined with Partial Least Squares Discriminant Analysis

ZHONG Gui<sup>1,2</sup>, ZHANG Ji<sup>2</sup>, ZHANG Jinyu<sup>2</sup>, LI Tao<sup>3</sup>, WANG Yuanzhong<sup>2\*</sup>

(1. Institute of Plant Nutrition and New Fertilizer, Yunnan University of Nationalities, Kunming 650500, China;  
2. Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650200, China;  
3. Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China)

**Abstract:** To establish a rapid method for the identification of *Panax japonicus* var. *major* (Araliaceae) from different geographical origins and provide the basis for quality evaluation, UV spectra combined with partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) method was used to distinguish *P. japonicus* var. *major* samples from different cultivation regions. Then the difference of *P. japonicus* var. *major* in UV spectra was analyzed, and the absorbance was investigated by PLS-DA. The results indicated that the absorption wavelength of the UV fingerprint of *P. japonicus* var. *major* samples from different regions was similar, and the peak intensity was different, which could effectively distinguish the *P. japonicus* var. *major* samples from different geographical origins. The PLS-DA method successfully separated the samples from Nujiang, Yuxi, Dali and Wenshan. Moreover, samples collected from Dali and Wenshan were similar, while the remaining samples were far from each other.

**Key words:** *Panax japonicus* var. *major*; UV spectra fingerprint; PLS-DA; identification of origin

收稿日期: 2015 - 02 - 06  
基金项目: 国家自然科学基金 (81260610, 81260608); 科技部“十二五”国家科技支撑计划项目 (2011BAI13B01 - 02, 2011BAI13B02 - 04); 农业部公益性行业科研专项 (201303117); 云南省科技计划项目 (2012CG024)  
作者简介: 钟 贵 (1985 - ), 男, 江西赣州人, 在读硕士研究生, 研究方向: 药用植物化学评价。  
E - mail: boletus@126.com  
\* 通讯作者: 王元忠 (1981 - ), 男, 云南怒江人, 助理研究员, 硕士, 主要从事药用植物资源研究。  
E - mail: yzwang1981@126.com

珠子参属于五加科人参属植物,是一种应用广泛的传统名贵中草药材,主要分布于中国西南和日本等地<sup>[1-2]</sup>。在中国西南地区,珠子参作为一种传统药物来治疗疾病<sup>[3]</sup>。珠子参具有补肺养阴、祛瘀止痛、止血、消炎、减肥、抗肿瘤和抗癌等功效<sup>[4-5]</sup>。珠子参的药用价值主要依靠其成分组成,而成分组成易受环境因子影响。珠子参的主要药效物质是多糖和皂苷<sup>[6]</sup>。目前对珠子参的研究主要采用植物化学的方法,如 Zhou 等<sup>[7]</sup>采用植物化学手段从珠子参根茎中分离出 2 种新的达玛型三萜皂苷,分别是 yesanchinoside R<sub>1</sub> 和 yesanchinoside R<sub>2</sub>;Yoshizaki 等<sup>[8]</sup>从珠子参叶子中分离出 schikusetsusaponin LM<sub>1</sub> 和 chikusetsusapoin LM<sub>2</sub> 2 种成分。由于珠子参的成分组成复杂,采用常用的植物化学方法不能准确地对其质量进行评价。

指纹图谱技术广泛应用于人参属植物的质量评价<sup>[9]</sup>。指纹图谱技术包括色谱指纹图谱和光谱指纹图谱。色谱指纹图谱包括高效液相色谱(HPLC)、超高效液相-质谱联用(UPLC-MS)、气相色谱-质谱联用(GC-MS)等指纹图谱技术,其广泛应用于人参属植物及产品真假鉴定、种源鉴定和产地鉴别<sup>[10-12]</sup>,但该技术费时、费力和成本高;光谱指纹图谱技术能快速、有效和全面地对中药材及产品进行质量评价。紫外光谱(UV)、近红外光谱(NIR)指纹图谱技术已经应用于不同种类、不同产地人参、西洋参、三七的质量评价<sup>[13-14]</sup>。丁永丽等<sup>[15]</sup>采用 UV 光谱指纹图谱对三七样品的产地和生长年限进行研究,结果表明,该方法能有效鉴定不同产地和生长年限的样品,但目前采用 UV 光谱指纹图谱对不同来源珠子参的研究尚未见报道。

光谱指纹图谱结合多元统计分析的方法广泛应用于中药材的物种、产地、生长年限及部位等方面的评价<sup>[15-18]</sup>。PLS-DA 法是一种有监督模式的分析方法,根据已知样品集的特征变量,选定适合的判别准则建立分析模型,用于未知样品的判别分析<sup>[19-20]</sup>。采用 UV 指纹图谱结合 PLS-DA 方法对不同产地的珠子参样品进行研究,确定不同产地样品之间的关系,为中药资源质量评价提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

8 个居群的珠子参样品(每个居群 1 个,每个居群珠子参种源不同)采于 2012 年 10 月 11 日,经云南省农业科学院药用植物研究所张金渝研究员鉴定为野生珠子参,样品来源详见表 1。

表 1 珠子参样品来源信息

| 编号 | 产地     | 编号 | 产地     |
|----|--------|----|--------|
| G1 | 云南怒江兰坪 | G5 | 云南怒江兰坪 |
| G2 | 云南怒江兰坪 | G6 | 云南怒江兰坪 |
| G3 | 云南玉溪澄江 | G7 | 云南大理洱源 |
| G4 | 云南大理鹤庆 | G8 | 云南文山马关 |

1.2 试验仪器与试剂

仪器包括 UV-2550 双通道紫外光谱仪(日本岛津)、DET-100 型中药粉碎机(浙江温岭市林大机械有限公司)、0.2 mm 尼龙网筛(北京中西泰安技术服务有限公司)、AR1140 型万分之一分析天平(USA, NJ)、SY3200T 型超声波清洗机(上海声源超声仪器设备有限公司)、IUP 超纯水机(优谱)、SIMCA-P<sup>+</sup>10.0 软件。氯仿为分析纯,超纯水来自 IUP 超纯水机。

1.3 样品处理

样品采集后,洗净、常温下阴干,粉碎、过 0.2 mm 尼龙网筛,存于自封袋中备用。称取珠子参样品 0.150 0 g 于 25 mL 具塞比色管中,加入 10.00 mL 氯仿,室温超声提取 40 min 后过滤,获得氯仿提取液,备用待测。取每个样品氯仿提取液 5 mL,以氯仿为参比溶液进行紫外指纹图谱测定。重复 3 次,测定波长 190~400 nm,狭缝 1.0 nm,采样间隔 0.2 nm。采用紫外可见分光光度计自带软件对采集的原始光谱进行 3 组平均化以提高测定的准确度,扣除 190~235 nm 处空白吸收波长,选取 235~400 nm 的吸光度值进行 PLS-DA 分析。

1.4 方法学试验

以 G1 样品为考查对象,准确称取 0.150 0 g 样品 1 份,同 1.3 处理方式重复测定 7 次,计算 RSD,考查精密度。

以 G1 样品为考查对象,准确称取 0.150 0 g 样品 7 份,同 1.3 处理方式测定样品,计算吸收波长的 RSD,考查重现性。

以 G1 样品为考查对象,准确称取 0.150 0 g 样品 1 份,同 1.3 处理方式提取后 1、3、5、10、25 h 分别测定,计算吸收波长的 RSD,考查稳定性。

1.5 数据处理

采用 PLS-DA 分析方法分析 8 个珠子参样品的紫外光谱数据。特征吸收峰值通过 Excel 前处理后,由 SIMCA-P<sup>+</sup>10.0 软件进行 PLS-DA 分析。

2 结果与分析

2.1 试验方法考察

用于方法精密性、重现性及 25 h 内稳定性考察

大量研究表明,不同产地药材的药效成分含量存在差异,导致其药用效果不同。Zhang 等<sup>[21]</sup>分析采自中国 4 个不同省份五味子药材的多种药用成分,结果显示,不同地区因为环境因素不同,其五味子素、水杨酸、矿质元素等成分含量有差异。黄瑞松等<sup>[22]</sup>测定了广西不同产地、不同采收期大叶钩藤中钩藤碱含量,发现不同产地样品中钩藤碱含量差异

明显。目前也有学者以光谱、色谱指纹图谱等定性的方法研究不同产地中药材的品质差异。雷建刚等<sup>[23]</sup>通过近红外光谱结合多元统计分析鉴别了不同产地枸杞样品,为其质量控制提供依据。

本研究采用 UV 指纹图谱结合 PLS-DA 分析方法对不同产地珠子参样品进行定性分析。UV 指纹图谱和 PLS-DA 得分图与载荷图都能有效地鉴别不同产地的珠子参样品。可通过 UV 指纹图谱特征吸收峰的峰面积差异来区别不同样品。PLS-DA 得分图能把 4 个产地样品区别开,PLS-DA 载荷图直观地揭示不同样品的贡献因子。珠子参样品代谢产物的差异受其产地的影响,而与地理距离无关。结果表明,该方法能简便、快捷、有效地区别怒江、玉溪、大理和文山的珠子参样品,为中药的质量评价提供参考,但需用更多的样品来验证该方法。

#### 参考文献:

- [1] Chan H H, Sun H D, Reddy M V B, *et al.* Potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from the roots *Panax japonicus* C. A. Meyer var. *major* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71 (11/12): 1360-1364.
- [2] 杨崇仁, 周俊, 田中治. 人参属植物的化学分类和资源利用 [J]. *云南植物研究*, 1988, 10 (1/2/3): 47-62.
- [3] Zhao H, Shi L, Cao J Q, *et al.* A new triterpene saponin from *Panax japonicus* C. A. Meyer var. *major* (Burk.) C. Y. Wu et K. M. Feng [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2010, 21 (10): 1216-1218.
- [4] Yamahara J, Kubomura Y, Miki K, *et al.* Anti-ulcer action of *Panax japonicus* rhizome [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 1987, 19 (1): 95-101.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 11.
- [6] Wang R F, Chen P, Jia F, *et al.* Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Panax japonicus* C. A. Meyer [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 88 (4): 1402-1406.
- [7] Zhou M, Xu M, Wang D, *et al.* New dammarane-type saponins from the rhizomes of *Panax japonicus* [J]. *Helv Chim Acta*, 2011, 94 (11): 2010-2019.
- [8] Yoshizaki K, Yahara S. New triterpenoid saponins from leaves of *Panax japonicus* (3). Saponins of the specimens collected in Miyazaki prefecture [J]. *Nat Prod Commun*, 2012, 7 (4): 491-493.
- [9] Xie Y Y, Luo D, Cheng Y J, *et al.* Steaming-induced chemical transformations and holistic quality assessment of red ginseng derived from *Panax ginseng* by means of HPLC-ESI-MS/MS<sup>n</sup>-based multicomponent quantification fingerprint [J]. *J Agr Food Chem*, 2012, 60 (33): 8213-8224.
- [10] 翟为民, 袁永生, 周玉新. 人参、西洋参及三七参指纹图谱鉴别 [J]. *中国中药杂志*, 2001, 26 (7): 481-482.
- [11] 王雁, 毕开顺. 三七 HPLC 指纹图谱的建立 [J]. *中国中药杂志*, 2003, 28 (4): 316-320.
- [12] 李焘, 屈新运, 王喆之. 陕西留坝西洋参药材 HPLC 指纹图谱的建立 [J]. *中药材*, 2008, 31 (8): 1146-1149.
- [13] Simona Z, Florinela F, Floricuta R, *et al.* Comparative fingerprint and extraction yield of medicinal herb phenolics with hepatoprotective potential, as determined by UV-Vis and FT-MIR spectroscopy [J]. *Not Bot Hort Agrobi*, 2011, 39 (2): 82-89.
- [14] Chen P, Luthria D, Harrington P D B, *et al.* Discrimination among *Panax* species using spectral fingerprinting [J]. *J AOAC Int*, 2011, 94 (5): 1411-1421.
- [15] 丁永丽, 王元忠, 张霁, 等. 硫酸香草醛显色-紫外吸收光谱法在三七质量评价中的应用 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33 (2): 471-475.
- [16] Zou H B, Yang G S, Qin Z R, *et al.* Progress in quality control herbal medicine with IR fingerprint spectra [J]. *Anal Lett*, 2005, 38 (9): 1457-1475.
- [17] Shin Y S, Bang K H, In D S, *et al.* Fingerprinting analysis of fresh ginseng roots of different ages using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy and principal components analysis [J]. *Arch Pharm Res*, 2007, 30 (12): 1625-1628.
- [18] Gao B Y, Lu Y J, Sheng Y, *et al.* Differentiating organic and conventional sage by chromatographic and mass spectrometry flow injection fingerprints combined with principal component analysis [J]. *J Agr Food Chem*, 2013, 61 (12): 2957-2963.
- [19] Ciosek P, Brzózka Z, Wróblewski W, *et al.* Direct and two-stage data analysis procedures based on PCA, PLS-DA and ANN for ISE-based electronic tongue-effect of supervised feature extraction [J]. *Talanta*, 2005, 67 (3): 590-596.
- [20] Barker M, Rayens W. Partial least squares for discrimination [J]. *J Chemometr*, 2003, 17 (3): 166-173.
- [21] Zhang Y, Li F, Huang F, *et al.* Metabolomics analysis reveals variation in *Schisandra chinensis* metabolites from different origins [J]. *Journal of Separation Science*, 2014, 37 (6): 731-737.
- [22] 黄瑞松, 覃冬杰, 张鹏, 等. 广西不同产地和不同采收期大叶钩藤中钩藤碱定量分析 [J]. *中草药*, 2012, 43 (1): 178-181.
- [23] 雷建刚, 刘敦华. 近红外光谱结合 SIMCA 对不同产地枸杞溯源模型的优化 [J]. *食品科学*, 2013, 34 (20): 148-152.